

Zur Möglichkeit der Blockierung
der Hyaluronidasehemmung
durch Adrenolytika

von

DIETER SCHMIDT

München

1960

Aus der Medizinischen Poliklinik der Universität München

(Direktor: Professor Dr. W. Seitz)

Zur Möglichkeit der Blockierung der Hyaluronidasehemmung
durch Adrenolytika

Inaugural-Dissertation

Zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfasst und einer Hohen Medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Dieter Schmidt

aus

München

1960

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen
Fakultät der Universität München

Referent: Professor Dr. W. Seitz

Dekan: Professor Dr. H. Schwiegk

Tag der mündlichen Prüfung: 14. 6. 1960

Inhaltsverzeichnis

Problematik	5
Eigene Untersuchungen	6
Methodik	6
Versuchsreihen	7
Statistische Auswertung	9
Diskussion	29
Zusammenfassung	29
Literaturverzeichnis	31



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41555225_0046

Einleitung

Meinen lieben Eltern gewidmet

VON A.
KLEIN
KLEIN



Problematik

In vorangegangenen Arbeiten haben M a t h i e s ¹⁻¹⁵ und Mitarbeiter ¹⁶⁻²⁴ zeigen können, daß die Wirkung hyaluronidasehemmender Substanzen an eine Nebennierenmarkfunktion mit vermutlicher Ausschüttung von Nebennierenmark-Katecholaminen gebunden ist. Im einzelnen haben die Versuche gezeigt, daß die Hyaluronidasehemmung von Acetylsalicylsäure, Phenylbutazon, Chloräthylbenzmethoxazon, Prednisolon und Moorbädern, die bei intakten Ratten statistisch gesichert werden konnten, bei adrenaletomierten Tieren ausbleibt, dagegen bei hypophysektomierten Ratten erhalten ist. Am Beispiel des Natriumsalicylats und Phenylbutazons sowie anderer hyaluronidasehemmender Substanzen hat D o m e n j o z ²⁵ gefunden, daß bei hypophysektomierten Ratten die Ascorbinsäure- und Cholesterinabnahme der Nebenniere, die bei intakten Ratten deutlich ist, ausbleibt. Diese Ascorbinsäure- und Cholesterindepletion ist als Ausdruck der inkretorischen Funktion der Nebennierenrinde aufzufassen. Da der Depletionseffekt bei hypophysektomierten Ratten ausbleibt, obwohl nach den erwähnten Untersuchungen von M a t h i e s und Mitarbeitern bei hypophysektomierten Tieren die Hyaluronidasehemmung erhalten bleibt, ist zu folgern, daß eine inkretorische Funktion der Nebennierenrinde nicht für das Zustandekommen der Hyaluronidasehemmung in vivo maßgebend sein kann. Da aber, wie die Versuche an adrenaletomierten Ratten gezeigt haben, die Anwesenheit der Nebenniere erforderlich zu sein scheint, ist ein über das Nebennierenmark laufender Mechanismus anzunehmen. M a t h i e s ²⁶ und S c h e u f e l e ²⁷ haben diese Ansicht durch ihre Untersuchungsergebnisse stützen können, in denen Adrenalin und Arterenol auch bei adrenaletomierten Tieren eine Hyaluronidasehemmung gleicher Größenordnung hervorrufen. Dabei hat sich gezeigt, daß beide Nebennierenmark-Katecholamine in gleicher Dosis eine Hyaluronidasehemmung annähernd des gleichen Ausmaßes bedingen. Auch ist die Größe der Hemmung bei unterschiedlichen Dosen nicht wesentlich voneinander verschieden, eher zeigen geringere Dosen (in den erwähnten Versuchen 1 μ gegenüber 6 μ) eine stärkere Hemmung. Auffallend ist die Tatsache, daß geringere Dosen zu einem früheren

Zeitpunkt zum Maximum der Hemmung führen.

Aufgabe der hier vorgelegten Untersuchungen sollte es sein, die Annahme einer Nebennierenmark-Katecholaminwirkung im Mechanismus der Hyaluronidasehemmung durch in vivo hemmende Substanzen weiter zu erhärten. Es sollte untersucht werden, ob Ergotamintartrat als Sympathikolytikum die Hyaluronidasehemmung durch Adrenalin und Arterenol blockiert. Bei einem positiven Ausfall dieser Untersuchungen war zu klären, ob Adrenolytika auch die Hyaluronidasehemmung einer hyaluronidasehemmenden Substanz auszuschalten in der Lage sind. In Anlehnung an die früheren Untersuchungen über die Hyaluronidasehemmung bei intakten, adrenalektomierten und hypophysektomierten Ratten unter Acetylsalicylsäure^{1,2,4} wurde in unserem Falle als Salicylat das Natriumsalz der Salicylsäure wegen seiner besseren Löslichkeit und Applikationsmöglichkeit herangezogen.

Eigene Untersuchungen

Methodik

Als Kriterium der Hyaluronidasewirkung bedienten wir uns der Diffusionsgeschwindigkeit einer Farbstoffquaddel in der Haut von Ratten. Wir verwendeten ausschließlich männliche weiße Ratten im Gewicht von 150 bis 210 g.

Es ergab sich aus Vorversuchen von J a n k o w s k i¹⁶, daß zur Injektion der Farbstofflösung und zur Ablesung ihrer Ausbreitung am besten die enthaarte Bauchhaut geeignet ist. Die Ausbreitung der Quaddeln verläuft meist zweiphasisch, so daß nur die innerhalb der ersten 10 Minuten ablaufende Reaktion sicher ein echter Hyaluronidaseeffekt ist, während später Resorptionsmechanismen im Vordergrund stehen dürften (M a d i n a v e i t i a²⁸).

Die Farbquaddeln wurden mit einer scharfen, dünnen Kanüle (Nr. 20) streng intrakutan in die gespannte Bauchhaut gesetzt. Eine genaue Injektion von 0,1 ccm war mit einer 1 ccm Rekordspritze gut zu erreichen. Da die Injektion und Messung nur bei völliger Ruhe des Tieres genau durchgeführt werden konnte, wurde das Tier durch eine subkutane Injektion einer frisch zubereiteten 10%igen Evipan-Natriumlösung narkotisiert und auf einem Brett durch leichten Gummizug an

den Extremitäten in Rückenlage gehalten, wobei 30 mg des Narkotikums pro 100 g Tier zur optimalen Narkosetiefe führten.

Als Farbstoff wurde eine 0,6%ige Evans-Blau-Lösung in physiologischer Kochsalzlösung verwendet. Bei der Verwendung von Hyaluronidase wurde der Inhalt einer Trockenampulle Kinetin enthaltend 150 IE in 2 ccm der Farbstofflösung gelöst, so daß bei der Injektion von 0,1 ccm 7,5 IE zur Wirkung kamen.

Es wurden stets zugleich eine reine Farbstoffquaddel und eine Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel an symmetrischen Stellen der Bauchhaut gesetzt. Die Quaddeln waren zunächst ca. 2 Minuten prominent und diffundierten dann als blaue Flecke in das Niveau der Haut. Die Abgrenzung erfolgte 10 Minuten post injektionem zunächst mit Tinte, dann wurde die Fläche auf einen aufgelegten durchsichtigen Zelluloidstreifen übertragen und der Flächeninhalt planimetrisch bestimmt.

Die Injektion von Natriumsalicylat wurde subkutan in der Lendengegend gegeben. Ergotamintartrat in einer Dosis von 0,8 mg/100 g und Regitin (0,01 mg/100 g) wurden ebenfalls subkutan eine halbe Stunde vor der Verabreichung von Natriumsalicylat bzw. Adrenalin oder Arterenol gegeben, da diese Resorptionszeit nötig ist, bis eine sympathikolytische Wirkung eintritt, die dann etwa 12-24 Stunden (beim Menschen) erhalten bleibt (S t o l l ²⁹).

1. Versuchsreihe

An 8 intakten Ratten wurde zunächst, wie oben beschrieben, eine reine Farbstoffquaddel und eine Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel gesetzt und deren Ausbreitung nach 10 Minuten registriert. Sodann bekamen 4 Tiere 1 γ Adrenalin pro 100 g Tier (Versuchsreihe 1a), die restlichen 1 γ Arterenol/100 g (Versuchsreihe 1b) intravenös verabreicht. Sofort und 15 Minuten nach der Injektion wurden die Tiere erneut gequaddelt und die Farbstoffausbreitung nach 10 Minuten gemessen. Dabei wurde eine Hemmung von durchschnittlich 19,1% (0 Minuten) bzw. 41,6% (15 Minuten) bei Adrenalin und 13,8% (0 Minuten) bzw. 52,7% (15 Minuten) bei Arterenol errechnet (Tabellen 1 und 2).

2. Versuchsreihe

Es wurde der 1. Versuch mit Adrenalin (Versuchsreihe 2a) bzw.

Tier Nr.	Farbstoff-Quaddel			Farbstoff+Hyaluronidasequaddel		
	vor	0'	15'	vor	0'	15'
	1 γ A d r e n a l i n			/100 g Tier i.v.		
1	140 mm ²	139 mm ²	134 mm ²	254 mm ²	234 mm ²	176 mm ²
2	124 mm ²	133 mm ²	110 mm ²	238 mm ²	224 mm ²	191 mm ²
3	120 mm ²	125 mm ²	114 mm ²	263 mm ²	228 mm ²	231 mm ²
4	127 mm ²	137 mm ²	131 mm ²	268 mm ²	239 mm ²	212 mm ²

T a b e l l e 1
(Versuchsreihe 1a)

Tier	Farbstoff-Quaddel			Farbstoff+Hyaluronidasequaddel		
	vor	0'	15'	vor	0'	15'
	1 γ A r t e r e n o l			/100 g Tier i.v.		
1	151 mm ²	150 mm ²	142 mm ²	230 mm ²	228 mm ²	179 mm ²
2	139 mm ²	121 mm ²	114 mm ²	254 mm ²	225 mm ²	172 mm ²
3	123 mm ²	109 mm ²	114 mm ²	236 mm ²	220 mm ²	187 mm ²
4	121 mm ²	120 mm ²	108 mm ²	232 mm ²	217 mm ²	178 mm ²

T a b e l l e 2
(Versuchsreihe 1b)

Arterenol (Versuchsreihe 2b) als hyaluronidasehemmender Substanz unter Ergotamintartrat 0,8 mg/100 g s.c. als Sympathikolytikum wiederholt. Unter der Einwirkung des Ergotamins blieb die deutliche Hemmung des 1. Versuches aus (Ergebnisse siehe Tab. 3 und 4).

3. Versuchsreihe

Als hyaluronidasehemmende Substanz diente Natriumsalicylat s.c. in einer Dosis von 50 mg/100 g Tier. Die Tiere wurden zu verschiedenen (Versuchsreihen 3a-c) Zeiten nach der subkutanen Injektion von Natriumsalicylat gequaddelt, um festzustellen, zu welchem Zeitpunkt das Maximum der Hemmung auftritt. Es zeigte sich, daß nach 20 Minuten noch keine Hemmung nachweisbar ist. Nach 30 Minuten ist bereits eine deutliche Hemmung von 32,9% sichtbar. Die Hemmung bleibt dann ungefähr auf gleicher Höhe (nach 40 Minuten 28,4%) um bei 50 Minuten mit 35,4% ihr Maximum zu erreichen. Nach 60 Minuten beginnt ein Abfall (24,9%) und nach 80 Minuten schließlich ist die Hemmung mit 16,1% nur mehr gering (Ergebnisse siehe Tab. 5-7 und Abb. 1).

4. Versuchsreihe

Vier Tiere erhielten wiederum 50 mg/100 g Natriumsalicylat subkutan injiziert, nachdem 30 Minuten vorher 0,8 mg/100 g Ergotamintartrat s.c. appliziert worden war. 50 Minuten nach Natriumsalicylat-Injektion, zu welchem Zeitpunkt im 3. Versuch ohne Ergotamin das Maximum der Hemmung lag, konnte keine Hemmung mehr festgestellt werden (Tabelle 8).

5. Versuchsreihe

Hier wurde als Sympathikolytikum Regitin in einer Dosis von 0,01 mg pro 100 g Tier subkutan 30 Minuten vor der Natriumsalicylat-Injektion verabreicht. Die übrigen Bedingungen waren die gleichen wie beim letzten Versuch. Auch hier konnte keine hyaluronidasehemmende Wirkung des Natriumsalicylats mehr festgestellt werden (Tabelle 9).

Berechnung und statistische Auswertung der Versuchsergebnisse

Bei der Berechnung der Hemmung kann man die reine Farbstoffquaddel vor dem Versuch als maximal gehemmt annehmen. Die Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel zu Beginn des Versuchs kann man dementsprechend als völlig ungehemmt ansehen. Die reine Farbstoffquaddel ist also gegenüber der Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel 100% gehemmt, so daß

Tier Nr.	Farbstoffquaddel		Farbstoff+Hyaluronidasequaddel	
	vor	15'	vor	15'
	1g Adrenalin/100g, dieses	30' 0,8mg	Ergotamintartrat/100g	
1	103 mm ²	115 mm ²	210 mm ²	243 mm ²
2	115 mm ²	129 mm ²	259 mm ²	241 mm ²
3	108 mm ²	125 mm ²	227 mm ²	240 mm ²
4	110 mm ²	99 mm ²	219 mm ²	200 mm ²

T a b e l l e 3
(Versuchsreihe 2a)

Tier Nr.	Farbstoffquaddel		Farbstoff+Hyaluronidasequaddel	
	vor	15'	vor	15'
	1g Arterenol/100g, dieses	30' 0,8mg	Ergotamintartrat/100 g	
1	106 mm ²	113 mm ²	202 mm ²	196 mm ²
2	127 mm ²	125 mm ²	245 mm ²	234 mm ²
3	114 mm ²	120 mm ²	247 mm ²	239 mm ²
4	121 mm ²	119 mm ²	231 mm ²	230 mm ²

T a b e l l e 4
(Versuchsreihe 2b)

Tier Nr.	Farbstoff-Quaddel			Farbstoff+Hyaluronidasequaddel		
	vor	20'	40'	vor	20'	40'
	50 mg Natriumsalicylat/100 g Tier					
1	141 mm ²	146 mm ²	142 mm ²	310 mm ²	296 mm ²	250 mm ²
2	117 mm ²	124 mm ²	140 mm ²	229 mm ²	250 mm ²	216 mm ²
3	140 mm ²	130 mm ²	136 mm ²	240 mm ²	223 mm ²	210 mm ²
4	122 mm ²	140 mm ²	123 mm ²	227 mm ²	228 mm ²	196 mm ²

T a b e l l e 5
(Versuchsreihe 3a)

Tier Nr.	Farbstoff-Quaddel			Farbstoff+Hyaluronidasequaddel		
	vor	30'	50'	vor	30'	50'
	50 mg Natriumsalicylat /100 g Tier					
1	161 mm ²	150 mm ²	130 mm ²	251 mm ²	206 mm ²	187 mm ²
2	146 mm ²	140 mm ²	154 mm ²	303 mm ²	225 mm ²	248 mm ²
3	159 mm ²	151 mm ²	150 mm ²	273 mm ²	247 mm ²	250 mm ²
4	157 mm ²	149 mm ²	156 mm ²	307 mm ²	244 mm ²	260 mm ²

T a b e l l e 6
(Versuchsreihe 3b)

Tier Nr.	Farbstoff-Quaddel			Farbstoff+Hyaluronidasequaddel		
	vor	60'	80'	vor	60'	80'
	50 mg Natriumsalicylat /100 g Tier					
1	162 mm ²	137 mm ²	138 mm ²	298 mm ²	258 mm ²	252 mm ²
2	135 mm ²	138 mm ²	141 mm ²	240 mm ²	210 mm ²	240 mm ²
3	149 mm ²	154 mm ²	164 mm ²	274 mm ²	251 mm ²	260 mm ²

T a b e l l e 7
(Versuchsreihe 3c)

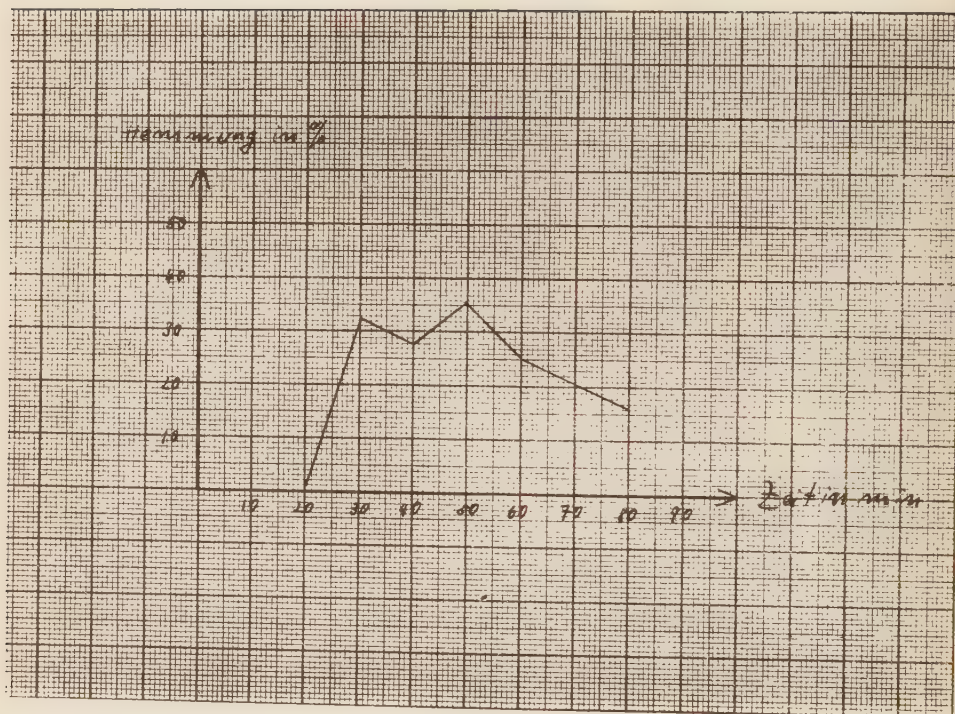


Abbildung 1

Graphische Darstellung des zeitlichen Ablaufs der Hemmung
unter der Einwirkung von Natrium-Salicylat

Tier Nr.	Farbstoffquaddel		Farbstoff+Hyaluronidasequaddel	
	vor 50mg Na-Salicylat/100g,	50' dieses	vor 30' 0,8mg Ergotamintartrat/100g	50'
1	150 mm ²	175 mm ²	222 mm ²	245 mm ²
2	137 mm ²	163 mm ²	247 mm ²	255 mm ²
3	147 mm ²	155 mm ²	246 mm ²	230 mm ²
4	168 mm ²	150 mm ²	232 mm ²	239 mm ²

T a b e l l e 8

(Versuchsreihe 4)

Tier Nr.	Farbstoffquaddel		Farbstoff+Hyaluronidasequaddel	
	vor 50 mg Na-Salicylat/100g,	50' dieses	vor 30' 0,01mg Regitin/100 g	50'
1	112 mm ²	118 mm ²	214 mm ²	221 mm ²
2	137 mm ²	131 mm ²	253 mm ²	257 mm ²
3	142 mm ²	140 mm ²	250 mm ²	247 mm ²
4	133 mm ²	129 mm ²	210 mm ²	221 mm ²

T a b e l l e 9

(Versuchsreihe 5)

man danach die Differenz dieser beiden Quaddelflächen gleich 100% setzen kann. Die Differenz der Flächen der Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel vor dem Versuch zur Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel unter einer hyaluronidasehemmenden Substanz beträgt somit x%. Nun läßt sich die Hemmung mit einem einfachen Dreisatz berechnen.

Jede Versuchsreihe wurde für sich statistisch ausgewertet, wobei wir jeweils ein lineares statistisches Modell zugrundelegten, dessen Struktur von der Fragestellung bestimmt wurde, die mit der Versuchsreihe verbunden war.

Die Versuchsreihen 1 und 3 dienten der Feststellung des hyaluronidasehemmenden Effektes der jeweiligen Prüfsubstanz. Eine solche Hyaluronidasehemmung liegt vor, wenn nach Belastung mit der Prüfsubstanz die Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel eine Verkleinerung gegenüber ihrem Ausgangswert erfährt. Dieses Verhalten der Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel kann jedoch nur dann als spezifischer Hyaluronidase-Effekt gedeutet werden, wenn gleichzeitig die reine Farbstoffquaddel unverändert bleibt. Bei diesen Versuchsreihen wurde daher geprüft, ob

1. die reine Farbstoffquaddel über den gesamten Versuchsablauf hinweg (annähernd) konstant ist, und
2. ob die Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel nach Applikation der Prüfsubstanz eine Änderung (Verkleinerung) gegenüber ihrem Ausgangswert erfährt.

Die Prüfung dieser beiden Fragen wurde mit je einer Varianz-Analyse durchgeführt, der als lineares Modell die Annahme zugrundelag, daß sich die Quaddeln für alle Versuchstiere von einem Zeitpunkt zum anderen um den gleichen Betrag ändern.

Die Versuchsreihen 2, 4 und 5 sollten zeigen, in welchem Ausmaße die Hyaluronidasehemmung, die durch die Prüfsubstanzen bewirkt wird, durch gleichzeitige Gabe von Regitin bzw. von Gynergen blockiert werden kann. Liegt eine vollständige Blockade der Hyaluronidasehemmung vor, so darf sich die Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel gegenüber ihrem Ausgangswert nicht ändern. Dasselbe trifft auch für die reine Farbstoffquaddel zu und dementsprechend müssen sich dann die beiden

Quaddel-Typen während des gesamten Versuchsablaufes stets um den gleichen Betrag unterscheiden. Die statistische Auswertung dieser Versuchsreihen konnte daher jeweils mit einer einzigen mehrfachen Varianz-Analyse durchgeführt werden, der als lineares Modell die Annahme zugrunde lag, daß sich die beiden Quaddel-Typen bei allen Tieren um den gleichen Betrag unterscheiden und außerdem während des gesamten Versuchsablaufes unverändert bleiben.

Das Ergebnis der Varianz-Analysen ist in den Tabellen 10 - 18 wiedergegeben. Es bedeutet in den Schemata der Varianz-Analysen n die Zahl der Freiheitsgrade, SAQ das Summen-Abstands-Quadrat und MAQ das Mittlere-Abstands-Quadrat der jeweiligen Varianz-Komponenten.

Die "Rest-Varianz" diene in allen Fällen als Schätzung des Versuchsfehlers. $F_{emp.}$ ist jeweils der Varianz-Quotient zwischen den entsprechenden Varianz-Komponenten und der zugehörigen Rest-Varianz, p ist die Überschreitungswahrscheinlichkeit, die $F_{emp.}$ in der zugehörigen F-Prüfverteilung höchstens zukommt. Sie ist nur angegeben, wenn sie nicht größer als 5% ist.

Wir interpretieren zunächst das Ergebnis der Varianz-Analysen für die Versuchsreihen 1a, 1b und 3.

1. Reine Farbstoff-Quaddel

Bei den Versuchsreihen 1a und 1b (Adrenalin bzw. Arterenol) besitzt der zur Varianz zwischen den Zeiten gehörige Varianz-Quotient eine Überschreitungswahrscheinlichkeit von höchstens 5%. Bei diesen Versuchsreihen ist somit die reine Farbstoff-Quaddel nicht über den gesamten Versuchsablauf hinweg konstant. Die Betrachtung der zu den einzelnen Zeitpunkten gehörigen Mittelwerte der Farbstoff-Quaddeln aller am Versuch beteiligter Tiere zeigt, daß bei beiden Versuchsreihen die Farbstoff-Quaddeln im Verlauf des Versuches kleiner werden.

Der zur Varianz zwischen den Zeiten gehörige Varianz-Quotient $F_{emp.}$ besitzt bei der Versuchsreihe 3 eine Überschreitungswahrscheinlichkeit, die größer als 5% ist. Eine Änderung der reinen Farbstoff-Quaddeln während des Versuchsablaufes läßt sich für diese Versuchsreihen statistisch somit nicht nachweisen. (Weiter

Farbstoff-Quaddel

Art der Varianz	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen Tieren	3	625	208	8,66	5%
Zwischen Zeiten	2	253	126	5,25	5%
Rest-Varianz	6	148	24		
Gesamt-Varianz	11	1.026	93		

Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel

Art der Varianz	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen Tieren	3	1.303	434	2,40	-
Zwischen Zeiten	2	5.683	2.842	15,70	1%
Rest-Varianz	6	1.086	181		
Gesamt-Varianz	11	8.072	733		

T a b e l l e 10
(Versuchsreihe 1a)

Farbstoff-Quaddel

Art der Varianz	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen Tieren	3	2.035	678	21,87	1%
Zwischen Zeiten	2	398	199	6,42	5%
Rest-Varianz	6	189	31		
Gesamt-Varianz	11	2.622	238		

Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel

Art der Varianz	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen Tieren	3	102	34	-	
Zwischen Zeiten	2	7.485	3.742	50,56	0,1%
Rest-Varianz	6	445	74		
Gesamt-Varianz	11	8.032	730		

T a b e l l e 11
(Versuchsreihe 1b)

Art der Varianz	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen Tieren	3	1.787	596	5,05	-
Zwischen Zeiten	1	105	105	-	-
Zwischen Quaddel-Typen	1	54.639	54.639	100,00	0,1%
Tiere - Zeiten	3	855	285	2,41	-
Tiere- Quaddeln	3	265	88	-	-
Zeiten - Quaddeln	1	33	33	-	-
Rest-Varianz	3	354	118		
Gesamt-Varianz	15	58.038	3.869		

T a b e l l e 12
(Versuchsreihe 2a)

Art der Varianz	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen Tieren	3	2.003	667	55,58	1,0%
Zwischen Zeiten	1	18	18	1,50	-
Zwischen Quaddel-Typen	1	48.290	48.290	100,00	0,1%
Tiere - Zeiten	3	27	9	-	-
Tiere - Quaddeln	3	688	229	19,08	5,0%
Zeiten - Quaddeln	1	77	77	6,41	-
Rest-Varianz	3	36	12		
Gesamt-Varianz	15	51.139	3.409		

T a b e l l e 13
(Versuchsreihe 2b)

Farbstoff-Quaddel

Art der Varianz	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen Tieren	3	488	163	2,06	-
Zwischen Zeiten	2	70	35	-	-
Rest-Varianz	6	478	79		
Gesamt-Varianz	11	1.036	94		

Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel

Art der Varianz	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen Tieren	3	2.895	965	6,65	5%
Zwischen Zeiten	2	2.805	1.402	9,67	1%
Rest-Varianz	6	869	145		
Gesamt-Varianz	11	12.369	1.124		

T a b e l l e 14
(Versuchsreihe 3a)

Farbstoff-Quaddel

Art der Varianz	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen Tieren	3	141	47	-	
Zwischen Zeiten	2	181	90	1,08	-
Rest-Varianz	6	498	83		
Gesamt-Varianz	11	820	75		

Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel

Art der Varianz	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen Tieren	3	6.084	2.028	15,96	1%
Zwischen Zeiten	2	5.741	2.870	22,59	1%
Rest-Varianz	6	762	127		
Gesamt-Varianz	11	12.587	1.144		

T a b e l l e 15
(Versuchsreihe 3b)

Farbstoff-Quaddel

Art der Varianz	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen Tieren	2	471	235	1,96	-
Zwischen Zeiten	2	55	27	-	
Rest-Varianz	4	480	120		
Gesamt-Varianz	8	1.006	126		

Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel

Art der Varianz	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen Tieren	2	2.609	1.305	8,21	5%
Zwischen Zeiten	2	1.482	741	4,66	-
Rest-Varianz	4	637	159		
Gesamt-Varianz	8	4.728	591		

T a b e l l e 16
(Versuchsreihe 3c)

Art der Varianz	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen Tieren	3	73	24	-	-
Zwischen Zeiten	1	248	248	2,07	-
Zwischen Quaddel-Typen	1	28.140	28.140	100,00	0,1%
Tiere - Zeiten	3	663	221	1,84	-
Tiere - Quaddeln	3	523	174	1,45	-
Zeiten - Quaddeln	1	23	23	-	-
Rest-Varianz	3	360	120		
Gesamt-Varianz	15	30.030	2.002		

T a b e l l e 17
(Versuchsreihe 4)

Art der Varianz	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen Tieren	3	2.573	857	61,21	1%
Zwischen Zeiten	1	11	11	-	-
Zwischen Quaddel-Typen	1	43.160	43.160	100,00	0,1%
Tiere - Zeiten	3	51	17	1,21	-
Tiere - Quaddeln	3	684	228	16,28	5%
Zeiten - Quaddeln	1	39	39	2,78	-
Rest-Varianz	3	42	14		
Gesamt-Varianz	15	46.560	3.104		

T a b e l l e 18
(Versuchsreihe 5)

unten wird zu dieser Frage nochmals Stellung genommen).

2. Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel

Mit Ausnahme der Versuchsreihe 3c besitzt der zur Varianz zwischen den Zeiten gehörige Varianz-Quotient $F_{\text{emp.}}$ eine Überschreitungswahrscheinlichkeit, die höchstens 5% beträgt. Mit Ausnahme der genannten Versuchsreihen liegt somit bei allen hier diskutierten Versuchsreihen eine statistisch gesicherte Änderung der Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddeln während des Versuchsablaufes vor. Nur bei dieser Versuchsreihe ist es daher sinnvoll, zu untersuchen, ob diese Änderungen durch eine Hemmung der Hyaluronidasetätigkeit bewirkt wird. Dieses wird weiter unten geschehen.

Bei den Versuchsreihen 2a, 2b, 4 und 5 (Blockade durch Regitin bzw. Gynergen) besitzt der zur Varianz zwischen den Zeiten gehörige Varianz-Quotient $F_{\text{emp.}}$ in jedem Falle eine Überschreitungswahrscheinlichkeit, die größer als 5% ist. Die gleiche Aussage gilt für die zu den Wechselwirkungen "Tiere-Zeiten" und "Zeiten-Quaddeln" gehörigen Varianz-Quotienten. Bei keiner dieser Versuchsreihen läßt sich somit ein Einfluß des Zeitfaktors auf die Größe der Quaddeln (reine Farbstoff-Quaddel sowie Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel) feststellen. Da es sich weiter oben gezeigt hat, daß die Prüfsubstanzen eine Änderung der Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddeln herbeiführen, bedeutet dieses Ergebnis, daß durch Regitin bzw. durch Gynergen diese Wirkung blockiert werden kann.

Zur Kennzeichnung des Verhaltens der Quaddeln zu den einzelnen Zeitpunkten einer Versuchsreihe dient der Mittelwert $\bar{x}$ der Quaddelgrößen aller Versuchstiere zu dem betreffenden Zeitpunkt. Diese Mittelwerte sind in den Tabellen 19-27 angegeben.

Auf Grund der linearen statistischen Modelle, die wir der Auswertung zugrundelegten, ist die Mittelwertsdifferenz zwischen zwei verschiedenen Zeitpunkten ein Schätzwert für die allen Versuchstieren gemeinsame "tätliche" Änderung der Quaddelgröße.

Für diejenigen Versuchsreihen, bei denen die Varianz-Analysen statistisch gesicherte Änderungen in der Ausbreitung der Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddeln ergaben, war noch zu prüfen, ob diese Änderung

	$\bar{x}$	s^2	Hyase- Hemmung	Siche- rung
E_v	128	75		
H_v	256	173		
$E_{0'}$	133	38		
$H_{0'}$	231	44	19,1%	5,0%
$E_{15'}$	122	144		
$H_{15'}$	202	579	41,6%	1,0%

T a b e l l e 19
(Versuchsreihe 1a)

	$\bar{x}$	s^2	Hyase- Hemmung	Siche- rung
E_v	133	201		
H_v	238	120		
$E_{0'}$	125	307		
$H_{0'}$	222	24	13,8%	5,0%
$E_{15'}$	119	233		
$H_{15'}$	179	38	52,7%	1,0%

T a b e l l e 20
(Versuchsreihe 1b)

	$\bar{x}$	s^2	Hyase- Hemmung	Siche- rung
E_v	109	25		
H_v	229	455		
$E_{15'}$	117	179		
$H_{15'}$	231	429	-1,9%	-

T a b e l l e 21
(Versuchsreihe 2a)

	$\bar{x}$	s^2	Hyase- Hemmung	Siche- rung
E_v	117	82		
H_v	231	431		
$E_{15'}$	119	24		
$H_{15'}$	225	381	5,7%	-

T a b e l l e 22
(Versuchsreihe 2b)

	$\bar{x}$	s^2	Hyase- Hemmung	Siche- rung
E_v	130	151		
H_v	251	1 554		
$E_{20'}$	135	97		
$H_{20'}$	249	1.109	1,9%	-
$E_{40'}$	135	73		
$H_{40'}$	218	525	28,4%	1,0%

T a b e l l e 23
(Versuchsreihe 3a)

	$\bar{x}$	s^2	Hyase- Hemmung	Siche- rung
E_v	156	45		
H_v	283	700		
$E_{30'}$	147	26		
$H_{30'}$	238	476	32,9%	-
$E_{50'}$	147	142		
$H_{50'}$	236	1.105	35,4%	-

T a b e l l e 24
(Versuchsreihe 3b)

	$\bar{x}$	s^2	Hyase- Hemmung	Siche- rung
E _v	149	182		
H _v	271	849		
E _{60'}	143	91		
H _{60'}	240	673	24,9%	-
E _{80'}	148	202		
H _{80'}	250	101	16,1%	

T a b e l l e 25
(Versuchsreihe 3c)

	$\bar{x}$	s^2	Hyase- Hemmung	Siche- rung
E _v	150	167		
H _v	237	143		
E _{50'}	161	119		
H _{50'}	242	110	-6,8%	-

T a b e l l e 26
(Versuchsreihe 4)

	$\bar{x}$	s^2	Hyase- Hemmung	Siche- rung
E _v	131	174		
H _v	232	524		
E _{50'}	129	82		
H _{50'}	236	337	-4,7%	-

T a b e l l e 27
(Versuchsreihe 5)

auf eine Hemmung der Hyaluronidase-Tätigkeit zurückzuführen ist und für welche Zeitpunkte eine solche Hemmung statistisch zu sichern ist. Eine Hemmung liegt dann vor, wenn für einen Zeitpunkt nach Belastung die Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel einen kleineren Mittelwert $\bar{x}$ besitzt als vor der Belastung, gesichert ist diese Hemmung, wenn diese Mittelwertsdifferenz statistisch wesentlich kleiner als Null ist. Wir drückten diese Mittelwärtsänderung in Form einer prozentualen Hyaluronidasehemmung aus, deren Wert ebenfalls in den Tabellen 19-27 angegeben ist. (Diese Angaben wurden auch für diejenigen Versuchsreihen gemacht, bei denen keine gesicherte Änderung der Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel vorlag.) Es zeigt sich, daß tatsächlich für alle Zeitpunkte eine Hemmung der Hyaluronidasetätigkeit vorliegt und es war nur noch zu entscheiden, für welche Zeitpunkte diese Hemmung statistisch gesichert ist. Hierzu führten wir, im Anschluß an die Varianz-Analysen, einen von Duncan entwickelten Test zur simultanen Prüfung mehrerer Mittelwertsdifferenzen durch. In den angegebenen Tabellen findet sich das Ergebnis dieses Tests in der mit "Sicherung" bezeichneten Spalte. Es ist dort jeweils die Irrtumswahrscheinlichkeit angegeben, mit der behauptet werden kann, die Hyaluronidasehemmung zu dem betreffenden Zeitpunkt sei statistisch gesichert, wobei diese Angabe allerdings nur dann gemacht wurde, wenn die betreffende Irrtumswahrscheinlichkeit kleiner als 5% war. Denn nur in diesem Falle kann die Hyaluronidasehemmung als statistisch gesichert gelten.

Es ist notwendig, noch eine Bemerkung über das Verhalten der reinen Farbstoffquaddeln in der Versuchsreihe 3 (Na-Salicylat) zu machen. Obschon hier in keinem Falle eine Änderung der Farbstoffquaddeln statistisch zu sichern war, fällt dennoch auf, daß bei diesen Versuchsreihen die Mittelwerte der Farbstoffquaddeln im Verlaufe der Versuche teilweise größer werden und zwar am stärksten zu denjenigen Zeitpunkten, die die größte Hyaluronidasehemmung aufweisen. Es ist zu vermuten, daß es sich hierbei nicht um einen zufälligen sondern vielmehr um einen spezifischen Effekt handelt, der bei einer größeren Zahl von Versuchstieren statistisch faßbar gewesen wäre. Bei Adrenalin und Arterenol läßt sich dieser Effekt, wie oben bereits bemerkt wurde, statistisch schwach sichern (Irrtumswahrscheinlichkeit höchstens 5%), was in diesem Falle auf die größere Homogenität in der Reaktion der Versuchstiere auf diese beiden Substanzen zurückzuführen ist (kleinere Rest-Varianzen).

Diskussion

Wie aus den Untersuchungen von Mathies²⁶ und Scheu-
felle²⁷ an adrenaletomierten Ratten hervorgeht, besteht nach
Injektion von 1 γ Adrenalin bzw. Noradrenalin das Maximum der Hyal-
uronidasehemmung dieser Katecholamine mit Werten von 52,5% bzw.
57,2%. Auch wir haben in einleitenden Versuchen bei intakten Ratten
unter 1 γ Adrenalin eine Hyaluronidasehemmung von 41,6% und unter
1 γ Arterenol von 52,7% feststellen können. Zum gleichen Zeitpunkt
der maximalen Hyaluronidasehemmung nach Adrenalin- und Arterenol-
injektion wurde nach vorheriger Ergotamintartratapplikation keine
Hyaluronidasehemmung mehr festgestellt. Diese Versuche zeigen, daß
der vom Ergotamin bekannte Wirkungswandel der Nebennierenmarkkate-
cholamine auch an ihrem hyaluronidasehemmenden Effekt zum Ausdruck
kommt. Damit war die Möglichkeit gegeben, mit dieser Versuchsanord-
nung zu prüfen, ob bei einem Ausfall der Hyaluronidasehemmung nach
Injektion von hyaluronidasehemmenden Substanzen eine Mitwirkung der
Katecholamine beim Zustandekommen der Hyaluronidasehemmung disku-
tiert werden kann. In weiteren Versuchen haben wir den zeitlichen
Ablauf und das Ausmaß der Hyaluronidasehemmung unter 50 mg Natrium-
-Salicylat/100 g Tier s.c. ermittelt, wobei sich 50 Minuten nach
Natrium-Salicylat-Injektion mit 35,4% das Maximum der Hemmung zeigte.
Zu diesem Zeitpunkt wurden deshalb auch Versuche nach vorheriger
Ergotamintartratgabe durchgeführt, die zeigten, daß nunmehr eine
Hemmung nicht mehr zustandekommt. Das gleiche Verhalten konnte auch
unter Regitin als einer weiteren adrenolytischen Substanz festge-
stellt werden. Die erhobenen Befunde erhärten somit die eingangs
erwähnte Annahme, daß die hyaluronidasehemmende Wirkung, in diesem
Falle des Natrium-Salicylats, an eine Katecholaminausschüttung aus
dem Nebennierenmark gebunden ist. Eine solche haben Mathies⁵⁻⁷,
11-15 und Mitarbeiter^{18, 20, 22, 24} übrigens auch durch Bestimmun-
gen des Katecholamingehaltes der Nebenniere nach Acetylsalicylsäure,
Chloraethylbenzmethoxazon, Hydrocortison und Moorbädern sichtbar
machen können.

Zusammenfassung

In den vorgelegten Untersuchungen wurde gezeigt, daß Ergotamintartrat
die hyaluronidasehemmende Wirkung von Adrenalin und Noradrenalin auf-

hebt. Ferner wurde erwiesen, daß Ergotamintartrat und auch Regitin die nach Natrium-Salicylat-Injektionen auftretende Hemmung zu blockieren in der Lage sind. Durch diese Ergebnisse werden frühere Untersuchungen bestätigt, nach denen der hyaluronidasehemmende Effekt durch entsprechend wirksame Substanzen über eine Katecholaminausschüttung aus dem Nebennierenmark zustandekommen soll.

Literaturverzeichnis

- 1) Mathies, H. u. Jankowski, A.: Klin. Wschr. 35 (1957), 892
- 2) Mathies, H.: Med. Klin. 52 (1957), 1676
- 3) Mathies, H.: Arzneim. Forsch. 8 (1958), 233
- 4) Mathies, H.: Ärztl. Forsch. 12 (1958), I/87
- 5) Mathies, H.: Med. Mschr. 11 (1957), 791
- 6) Mathies, H.: im Manuskript
- 7) Mathies, H. u. Werther, G.v.: Arzneim. Forsch. im Druck
- 8) Mathies, H.: Zschr. ges. exper. Med. 131 (1959), 118
- 9) Mathies, H.: Med. Mschr. 12 (1958), 685
- 10) Mathies, H. u. Werther, G.v.: Zschr. angew. Bäder-Klimahk. 5 (1958), 503
- 11) Mathies, H. u. Werther, G.v.: Zschr. angew. Bäder-Klimahk. 5 (1958), 582
- 12) Mathies, H.: Zschr. f. Rheumaforsch. 17 (1958), 375
- 13) Mathies, H.: Internat. Kongr. f. univers. Moorforsch. Spa/Belgien 7.6.58
- 14) Mathies, H.: Internat. Kongr. f. Balneolog. u. Klimatolog. Lacco Ameno/
Isola d'Ischia Italien 4.-8.10.1958
- 15) Mathies, H.: Vortr. Dtsch. Ges. inn. Med. 64 (1958), 617
- 16) Jankowski, A.: Diss. München 1957
- 17) Hartmann, M.: Diss. München in Vorbereitung
- 18) Biechele, I.: Diss. München in Vorbereitung
- 19) Gerson, U.: Diss. München in Vorbereitung
- 20) Werther, G.v.: Diss. München 1958
- 21) Schlierf, G.: Diss. München in Vorbereitung
- 22) Kuepach, M.v.: Diss. München 1958
- 23) Rösch, U.: Diss. München in Vorbereitung
- 24) Kaiser, I.: Diss. München 1958
- 25) Domenjoz, R.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. 225 (1955), 14
- 26) Mathies, H.: Arch. internat. Pharmakodyn. ét Thér. im Druck
- 27) Scheufele, R.: Diss. München 1958
- 28) Madinaveitia, J.: Biochem. J. 33 (1939), 347
- 29) Stoll, A.: D. spez. Wirkstoffe d. Mutterkorns (1951), 39 Ed. Cantor
Aulendorf /Württ.

Ich danke Herrn Professor Dr. W. Seitz für die Überlassung des Themas und Herrn Dr. H. Mathies für Beratung und Unterstützung bei der Durchführung der Versuchsreihen und Abfassung der Arbeit. Herrn Dipl.-Mathematiker K. Liebrich danke ich für die statistische Auswertung. Die Versuchssubstanzen des Ergotamintartrats (Gynergen) und des Regitins wurden uns freundlicherweise von den Firmen Sandoz A.G., Nürnberg, und Ciba A.G., Wehr /Baden, zur Verfügung gestellt.

Ich wurde am 16. September 1935 in Obermenzing bei München geboren. Dort besuchte ich auch die Volksschule von 1941 bis 1946. Von 1946 an besuchte ich das Humanistische Gymnasium in München-Pasing, wo ich 1954 meine Reifeprüfung ablegte. Im Herbst des gleichen Jahres begann ich mit dem Studium der Medizin an der Universität in München. Im März 1957 bestand ich die ärztliche Vorprüfung. Die klinischen Semester studierte ich weiterhin in München. Im Frühjahr 1960 legte ich hier das medizinische Staatsexamen ab.

